



TITLE:

脂肪酸生合成系によるHBV生活環制御機構の解析(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

岡村, 瞳

CITATION:

岡村, 瞳. 脂肪酸生合成系によるHBV生活環制御機構の解析. 京都大学, 2018, 博士(生命科学)

ISSUE DATE:

2018-03-26

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k21227>

RIGHT:

許諾条件により本文は2019-03-25に公開; 許諾条件により要旨は2018-06-25に公開

(続紙 1)

京都大学	博士（生命科学）	氏名	岡村 瞳
論文題目	脂肪酸生合成系による HBV 生活環制御機構の解析		
(論文内容の要旨)			
<p>B型肝炎ウイルス(HBV)は慢性肝炎、肝硬変から肝癌の原因ウイルスである。HBV 感染患者の治療にはインターフェロンや核酸アナログ薬が用いられているが、HBV 感染を効果的に排除するまでには至っていない。そのために、HBV の生活環の詳細を明らかにし、その情報をもとに新たな抗 HBV 戦略を構築する必要がある。本論文では、HBV 感染によって宿主細胞内における活性上昇がこれまでに報告されている脂肪酸生合成系(Fatty acid Biosynthesis: FABS)と酸化ストレス防御因子 Nrf2 経路に着目し、その HBV 生活環との関連を明らかにすることを目的として組換え体 HBV 粒子産生細胞などを用いて研究をおこなっている。まず、FABS については、その 3 種の酵素、アセチル CoA カルボキシラーゼ 1(acetyl-CoA carboxylase: ACC1)と脂肪酸合成酵素(Fatty Acid Synthase: FAS)とステアロイル CoA デサチュラーゼ (stearoyl-CoA desaturase: SCD-1)に対する阻害剤をもちいて、その HBV 粒子産生に対する効果を検討した。その結果、SCD-1 阻害剤を除く酵素阻害剤で処理すると HBV 粒子産生の抑制が観察された。また FAS に対する siRNA で処理をおこなった場合でも同様の結果が観察され、FABS の中で ACC-1 と FAS の活性が HBV 粒子産生に関与していることが示唆された。また、FAS 阻害薬で処理している同細胞を過剰量の FABS 産物あるいは反応中間体を含む培地で培養したところ、炭素鎖 12 以上の飽和脂肪酸と長鎖一価不飽和脂肪酸の過剰処理で FAS 阻害剤の HBV 粒子産生抑制効果が解除され、確かに FABS による長鎖脂肪酸の合成が HBV 粒子産生に寄与していることがわかった。さらに FAS 阻害剤の HBV 増殖に対する作用点を解析したところ、細胞内における HBV ゲノム複製には影響が認められず、細胞外への粒子産生が阻害されていることがわかった。したがって、FABS は HBV 生活環の中の粒子形成から粒子の細胞外への輸送のいずれかの過程に関与していることを明らかにした。</p> <p>Nrf2 と HBV の生活環の関連については、まず Nrf2 に対する siRNA の効果を検討し、HBV 増殖を抑制する結果を得ており、恒常的な Nrf2 の活性は HBV の増殖に必要であることがわかった。しかしながら、Nrf2 活性化剤として知られるフィトケミカルであるスルフォラファン(sulforaphane: SFN)で HBV 粒子産生細胞を処理すると、HBV 粒子産生の抑制が観察された。この SFN の抗 HBV 効果は Nrf2 siRNA による共処理により抑制されたことから、Nrf2 活性化を介したものであることが確認された。SFN の効果は細胞内における HBV ゲノム複製には影響が認められず、細胞外への粒子産生が阻害されていたことから、その作用点は FAS 阻害剤と同様に HBV 生活環の中の粒子形成から粒子の細胞外への輸送のいずれかの過程にあることが推定された。そこで、SFN 処理時に FAS 産物である長鎖飽和脂肪酸であるパルミチン酸との共処理をおこなったところ、SFN による抗 HBV 作用は解除された。SFN 処理 HBV 粒子産生細胞における FABS 構成酵素の遺伝子発現を観察したところ、未処理細胞に比較して FABS の律速酵素である ACC-1 と FAS の mRNA の低下が観察された。このことから、SFN による Nrf2 活性化は、ひとつの FABS 制御系として機能し、長鎖脂肪酸の産生を低下させることで HBV 粒子産生を抑制している可能性が考えられた。このように HBV の感染によって誘導される 2 つの異なる細胞の反応系が関連して HBV の粒子産生を制御している可能性を示した。また、このことから、本研究で用いた薬剤の標的が、新たな作用機序をもつ新規抗 HBV 薬開発の標的となることが期待された。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

本論文は B 型肝炎ウイルス(HBV)の粒子産生に關与する新たな細胞内因子の解析を行なったものである。申請者は HBV の生活環を再現することができる細胞培養系を利用して、これまでに HBV 感染によってその活性が誘導されると報告があった脂肪酸生合成系と酸化ストレス防御因子 Nrf2 経路という 2 つの細胞反応系について、その HBV 生活環との関連を解析した。その結果、脂肪酸生合成系が HBV 粒子産生に關与しており、その産物である長鎖脂肪酸が重要な役割を果たしていることを明らかにした。また Nrf2 経路については、定常状態では HBV の増殖に必要な役割を有しているが、フィトケミカルであるスルフォラファンによって活性化された場合は抗 HBV 効果を示すことを明らかにした。スルフォラファンの効果は Nrf2 依存的に HBV の粒子形成から細胞外への放出までの過程を抑制していた。この効果が脂肪酸生合成系で産生される長鎖脂肪酸との共処理によって抑制されることを示し、この Nrf2 活性化による抗 HBV 効果は上記脂肪酸生合成系の酵素であるアセチル CoA カルボキシラーゼ 1 と脂肪酸合成酵素の遺伝子発現の抑制を介して脂肪酸生合成を低下することによる可能性を示唆している。

以上の結果は、HBV 感染によって活性化される 2 つ細胞内反応系が、HBV 粒子産生という共通した HBV 生活環の過程に關与していることを明らかにし、Nrf2 の活性が脂肪酸生合成系酵素の遺伝子発現を制御することで HBV 粒子産生を制御するという新たな機構の存在を初め示唆したものである。また、このことから、この 2 つの細胞内反応系が新規の抗 HBV 薬の標的になりうることを示したものである。

以上の成果は、HBV の生活環、特に細胞との相互作用の理解に關して新たな知見を加えるものと評価する。本論文は生命科学に關する高度で幅広い学識、ウイルス学分野における優れた研究能力、そして生命科学の理解・発展に寄与する新しい発見や概念がしめされており、論理的かつ一貫性を持って記述されている。よって本論文は博士（生命科学）の学位論文として価値あるものと判断した。さらに平成 30 年 1 月 30 日、論文公聴会を開催し、論文内容とそれに関連した口頭試問を行なった結果、合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。(ただし、学位規則第 8 条の規定により、猶予期間は学位授与日から 3 ヶ月以内を記入すること。)

要旨公開可能日： 平成 30 年 6 月 25 日